

(54) NOVEL ACYL COMPOUND OF FATTY ACID

(11) 58-79976 (A) (43) 13.5.1983 (19) JP
(21) Appl. No. 56-178693 (22) 7.11.1981
(71) NIPPON SHINYAKU K.K. (72) MAKOTO KITOU(2)
(51) Int. Cl. C07D207/46, A23J3/00, C07G7/00, C12P21/00

NEW MATERIAL: An acyl ester of N-hydroxysuccinimide with a fatty acid.

EXAMPLE: Palmitic ester of N-hydroxysuccinimide.

USE: An acylating agent of a protein, e.g. soybean glycinin, with a fatty acid, which is an oleophilic electrophilic substance, capable of giving a formed bonded substance and an enzymic decomposition substance having a high degree of emulsifiability, and usable for the food industry.

PROCESS: N-hydroxysuccinimide is reacted with a fatty acid, e.g. palmitic, octanoic or decanoic acid, in a solvent, e.g. tetrahydrofuran, in the presence of di-cyclohexylcarbodiimide, to give an ester of the N-hydroxysuccinimide with the fatty acid, which is then added to a glycinin solution to afford an acylated glycinin with the fatty acid (a novel substance). The resultant acylated glycinin with the fatty acid is then dissolved in a standard buffer solution and decomposed in the presence of pronase to afford an acylated peptide with the fatty acid (a novel substance).

⑪ 公開特許公報 (A)

昭58-79976

⑫ Int. Cl.³
 C 07 D 207/46
 A 23 J 3/00
 C 07 G 7/00
 C 12 P 21/00

識別記号

庁内整理番号
 7242-4C
 7915-4B
 6956-4H
 7235-4B

⑬ 公開 昭和58年(1983)5月13日
 発明の数 1
 審査請求 未請求

(全 3 頁)

⑭ 新規な脂肪酸アシル化合物

⑮ 特 願 昭56-178693

⑯ 出 願 昭56(1981)11月7日

⑰ 発明者 鬼頭誠

京都市左京区下鴨下川原町46番
地の72

⑱ 発明者 ザフルル・ハク

宇治市五ヶ庄平野57番地の8植
村ハウス内

宇治市木橋御藏山45番地の24

⑲ 出願人 日本新薬株式会社

京都市南区吉祥院西ノ庄門口町
14番地

⑳ 代理人 弁理士 片岡宏

明細書

〔発明の名称〕

新規な脂肪酸アシル化合物

〔特許請求の範囲〕

1. N-ヒドロキシカクシニミドの脂肪酸アシルエステル
2. 脂肪酸アシル化グリシン
3. 脂肪酸アシル化グリシンのプロナーゼ分解によって得られる脂肪酸アシル化ペプチド

〔発明の詳細な説明〕

食品蛋白質とくに植物性蛋白質の機能的性質を改善することについては近年大いにその重要性が強調されている。しかしながら実際にはそれら蛋白質の機能的性質の改善はあまり進んでおらず、また時には好ましからぬ官能試験結果をもたらすことが大きな理由となり、植物性蛋白質や米利用蛋白質の利用の増大が阻まれているというのが現状である。

植物性条件下で食品蛋白質に化学的変化を與えると、もとの栄養価に悪影響を及ぼすことなくその機能的性質を高めることができることとされ、たとえば食品蛋白質中のリジン抜基を、無水コハク酸でアシル化することによってもとの機能的性質を改善することが提案されている。ナロシルエステルやオオヌエ

テルもまた生成するが、これらは短時間のあいだに水性媒体中ににおいて加水分解されてしまう。

このようにして多くの大豆蛋白質が処理されているが、従来はその成功の度合はまちまちであった。なお食品蛋白質の化学的修飾のためのいろいろな試薬については Glazier や Peeney その他の研究者による立派な総説がある。

さて、生体膜の構造についての我々の瞭解度ならびにその生体内システムの重要性が深まるにつれて、蛋白質と脂質の相互作用の研究に対する新しい关心が高まってきた。このような相互作用は、多くの大豆蛋白質の機能的性質をさめる際に決定的な役割を演じているものと長い間認められてきた。そのような役割の重要性と複雑性の一例として小麦粉パン生地の構造を維持する膜における蛋白質と脂質間の相互作用の役割を挙げることができる。たとえば、大豆粉で強化した小麦粉を用いて製造したパンの機能的品質を改良するのにある種の極性脂質が有用であるとの報告があり、ヨーロッパ生地の極性脂質は主に親水性結合によってグリアジンと結合し、また同時に親水性結合によって主にグルタミンと結合しているとも報告されている。

また本発明者らも、ホスファチジルコリンと大豆蛋白質と

の結合は前者の分子と後者の蛋白質中の親水性鎖端との親水性相互作用や前者のタウロと後者の蛋白質との結合にもよるものであることを見出した。なお、これらの共有結合はまだ報告されてない。

ところで、親水性鎖端が親水性蛋白質分子と共有結合しておこる蛋白質の機能的変化と、そこで生ずる界面活性性質は興味ある研究課題といえるが、今までのところ大豆蛋白質を含むそのような化学的変成についての報告は見られない。もっとも、最近になって酵素的にL-ノルロイシンアシル基とコハク酸化D-α-カゼインとの共有結合を、蛋白質分子のカルボキシル末端でおこさせ、そのような結合を一つだけ生じさせることが報告されている。しかし、カゼインはそれが取り込まれるより前に酵素で分解をうける難点がある。

以上のべたような現状を背景として、本発明者は堿基触媒を用いてのエステル交換反応によって親水性大豆グリシン分子に親油性成分を導入することについての研究を行った。つまり、新規物質であるところのN-ヒドロキシカシニミドの脂肪酸アシルエステルを親油性求核物質として用いることによってグリシンのアシル化が有利に進行しかつて生成された結合物ならびにその酵素分解物が高濃度の乳化作用

(3)

実施例1

N-ヒドロキシカシニミド 3.6 g とバルミチン酸 8.1 g をテトラヒドロフラン 6.2 5 mL に溶解し、水浴で 0 ℃ に保つ。こゝへ酢酸下にジシクロヘキシカルボジミド 6.5 g を徐々に 30 分を要して加え、さらに 0 ℃ で 2 時間攪拌したのち 25 ℃ に一夜保つ。反応液を芦紙で漏過させ残渣を酢酸エチル 1.0 mL に溶解させる。これを大塩水で洗浄し、芦紙 (ワットマン 15 S) を用いて芦紙し、硫酸ソーダで乾燥させたのち試圧下に蒸発させ。得られたものを酢酸エチル-石油エーテルから再結晶すると綿片状のバルミチン酸エステルを得る。収率 6.6%。融点 8.8-9.1 ℃。

同様にして次のエステル類を製造した。

エステル名	融点
オクタノイン酸エステル	5.2-3.0
デカノイン酸エステル	7.0-2.0
カウリン酸エステル	7.4-7.0
ミリスチン酸エステル	8.2-3.0
オレイン酸エステル	(油状)

次に、これらのエステル類を親油性求核試薬として用いることにより大豆グリシンに脂肪酸アシル基を導入させる。

を有し食品工業上有用であることを基礎として本発明を完成した。

すなはち本発明は次の要點から構成される。

(1) N-ヒドロキシカシニミド脂肪酸アシルエステル。このものは文献未載の新規物質であり、蛋白質たとえば大豆グリシンのアシル化剤として有用である。

(2) 脂肪酸アシル化グリシン。本品もまた新規物質であって強力な乳化作用を有し、諸工業たとえば食品工業上有用なものである。

(3) 脂肪酸アシル化グリシンのプロナーゼによる分解能物。これもまた新規物質でかつ強力な乳化作用を有し、諸工業たとえば食品工業上有用である。

以下顔をおおて説明する。まず最初のN-ヒドロキシカシニミド脂肪酸アシルエステルについてのべる。N-ヒドロキシカシニミド自体は化學試薬として既知であるがその脂肪酸アシルエステルは未だ合成に成功した例はない。本発明者はN-ヒドロキシカシニミドの構造の脂肪酸アシルエステルの製造に成功し、かつ得られたものが大豆蛋白質の脂肪酸アシル化剤などとして有用であることを見出した。以下にこのような新規な脂肪酸アシルエステル類の製法を示す。

(4)

この反応はたとえば2-メルカプトエタノールの存在下又は不存下に、8M尿素の存在のととでpH 9.0及び2.5で反応させるのが好ましい。その具体例を次に示す。

実施例2

(1) 実施例1で得たバルミチン酸エステル 6.2 5 mL を含有するテトラヒドロフラン 5.0 mL を、8Mの尿素を含有する0.5 M標準緩衝液中の0.5 Mグリシン浴液 (4.5 0 mL) に徐々に添加し、得られる混合物をpH 9.0、2.5で保つ。その間容器を、「脱脂器」を用い毎分 50 ストローク (2.2 5 mL) で搅拌する。次いでこれを透心分離し、1MのNaClを含む標準緩衝液 pH 7.6へ透析させて反応を終了させる。これをエーテルで5回透析し、透心と透析を交互にくり返し行ない、最後に1.0 mLの2-メルカプトエタノール含有緩衝液へと透析する。このようにして得られたバルミチル化グリシンは4.0で保存する。収率は5.4%であった。なお、ガスクロマトグラフを用いての定量の結果、この方法で得られたバルミチル化グリシンは1.1 メルのバルミチル基をとり込んでいることが判明した。

(2) 上記と同じ反応を2-メルカプトエタノールを用いずに行ったところ類似のバルミチル化グリシン (1.1 メルのバルミチル基をとり込んでいることが判明した)。

(5)

(6)

この容器の pH を 0.1 N 塩酸を用いて 6.0 に調節したのち、クロロホルム-メタノール-ブタノール混液 (2:1:2 容量比) で抽出して、分解産物なるバルミトイール化ペプチドを製造した。このもののペプチド部分はバルミトイール基 1 つあたりアミノ酸残基が 4-5コ結合したものである。

同様にしてオクタノイル、デカノイル、ラウロイル、ミリストイル及びオレオイル化されたペプチドを刈るする脂肪酸アシル化グリシンのプロナーゼビによる分解によって製造した。このようにして製造された脂肪酸アシル化ペプチドもまた強力な乳化作用を示す。

以上

されたバルミトイール基は 5 モル) が 7.7% の収率で得られた。同様の反応によりオクタノイル化、デカノイル化、ラウロイル化、ミリストイル化及びオレオイル化されたグリシンを得ることができた。

なお、このようにして得られた脂肪酸アシル化グリシンの乳化作用を Pearce 及び Kinsella の方法 (J. Agric. Food Chem. 26, 716, 1978) によりしらべた。その結果、グリシンの乳化能を 1.0 とした場合にバルミトイール化グリシンの乳化能は、実施例 2(a) により得たものは 2.46 であり、また実施例 2(b) により得たものは 2.66 という高い値を示した。他の脂肪酸アシル化グリシンにおいても、これほど同様の乳化能指数を示した。

次いで、ここに得られた脂肪酸アシル化グリシンをプロナーゼ酵素で分解することにより、依然として強力な乳化作用を示す脂肪酸アシル化ペプチドが製造される。その実施例を次に示す。

実施例 3

バルミトイール化グリシン 1.00 g を、実施例 2 に示す標準液濃度 1.0 mM にとかし、この溶液をプロナーゼ B 5 mM の条件下 pH 7.0, 40°C の条件で 3 時間反応させた。反応後、

(7)

手続補正書(自発)

昭和56年1月7日(6日)

特許庁長官 島田 勝樹 様

1. 事件の認定

56-125674

昭和 56 年 1 月 7 日付提出の特許願(願書番号通知未受領)

2. 免明の名称

新規な脂肪酸アシル化合物

3. 補正をする者

事件との関係 特許出願人

住所 〒601 京都市南区吉祥院西ノ庄門口町 1-4番地

名前 (415) 日本新薬株式会社

取締役社長 森 下 弘

4. 代理人

住所 〒601 京都市南区吉祥院西ノ庄門口町 1-4番地

日本新薬株式会社内

氏名 (6136) 井原士一片



5. 補正の対象

明細書の免明の詳細な説明の欄

(8)

6. 補正の内容

(1) 明細書第 3 頁下から 3 行目に「殺菌性求核電子物質」とあるのを、「殺菌性殺電子物質」に訂正する。

(2) 明細書第 5 頁下から 2 行目に「殺菌性求核試験」とあるのを、「殺菌性殺電子試験」に訂正する。

以上